

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005年9月9日 (09.09.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/083448 A1

(51) 国際特許分類⁷:

G01N 37/00, 33/53

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2005/002440

(22) 国際出願日: 2005年2月17日 (17.02.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-056237 2004年3月1日 (01.03.2004) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 横河電機株式会社 (YOKOGAWA ELECTRIC CORPORATION) [JP/JP]; 〒1808750 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 Tokyo (JP). 独立行政法人 理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 田名網 健雄 (TANAMI, Takeo) [JP/JP]; 〒1808750 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内 Tokyo (JP). 田代 英夫 (TASHIRO, Hideo) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 独立行政法人 理化学研究所内 Saitama (JP).

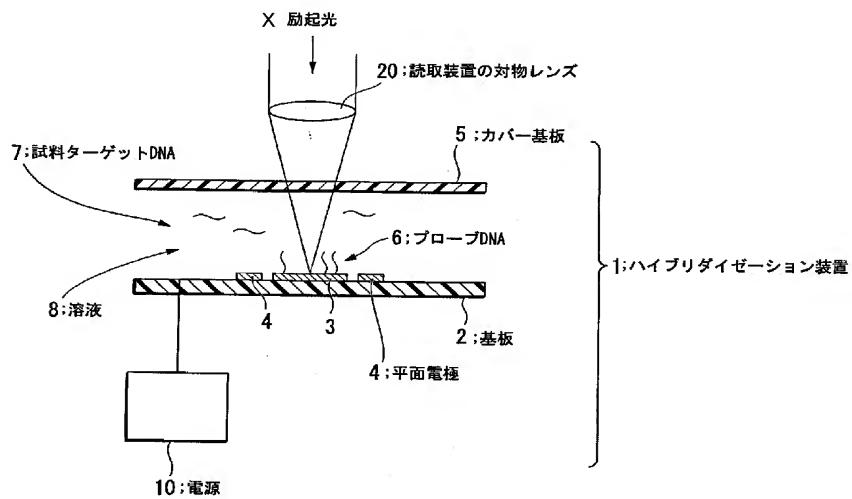
(74) 代理人: 志賀 正武, 外 (SHIGA, Masatake et al.); 〒1048453 東京都中央区八重洲2丁目3番1号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,

/続葉有/

(54) Title: SUBSTRATE FOR MICROARRAY OF BIOMOLECULE, HYBRIDIZATION DEVICE, AND HYBRIDIZATION METHOD

(54) 発明の名称: 生体高分子のマイクロアレイ用基板、ハイブリダイゼーション装置、およびハイブリダイゼーション方法



X... EXCITING LIGHT
1... HYBRIDIZATION DEVICE
2... SUBSTRATE
4... PLANAR ELECTRODE
5... COVER SUBSTRATE

6... PROBE DNA
7... SAMPLE TARGET DNA
8... SOLUTION
10... POWER SUPPLY
20... OBJECTIVE LENS OF READER

(57) Abstract: A substrate for hybridization of biomolecule, a biomolecule hybridization device, and a biomolecule hybridization method in which biomolecule is hybridized at higher rate through dielectrophoresis migration or electrophoresis by applying an AC or DC voltage to a planar electrode thereby generating an electric field, and hybridized biomolecule can be read out using a laser or the like.

/続葉有/

WO 2005/083448 A1



SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),

添付公開書類:
— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約: 平面電極に交流または直流の電圧を印加して電界を発生させることにより誘電泳動または電気泳動により生体高分子のハイブリダイゼーションを高速化すると共に、ハイブリダイズした生体高分子をレーザなどにより読み取り可能とした生体高分子のハイブリダイゼーション用基板、生体高分子のハイブリダイゼーション装置およびハイブリダイゼーション方法を提供する。

明 細 書

生体高分子のマイクロアレイ用基板、ハイブリダイゼーション装置、およびハイブリダイゼーション方法

技術分野

[0001] 本発明は、DNAやRNAなどの生体高分子のマイクロアレイ用基板、この基板を用いたハイブリダイゼーション装置、およびこの装置を用いてハイブリダイゼーションを高速化する方法に関する。

背景技術

[0002] 従来より、遺伝子診断、病原菌の特定、一塩基多型の検出などにおいては、被検体である核酸(ターゲット核酸)を検出する目的で、プローブ核酸とターゲット核酸とのハイブリダイゼーションが広く利用されている。近年、多数のプローブ核酸を基板に固定したDNAチップやDNAマイクロアレイが実用されるようになり、ハイブリダイゼーションはターゲット核酸の検出に使用されている。

[0003] 生体高分子マイクロアレイ(例えばDNAチップやDNAマイクロアレイ)の作製においては、基板に多数のプローブDNAをそれぞれスポットとして整列させ固定化する必要がある。DNAの固定化方法としては、例えば、チオールを一本鎖DNAに接合させ、チオール化した一本鎖DNAを例えば金属基板に固定化する方法がある。

固定化されたプローブDNAに、被検体であるターゲットDNAを作用させ、これらの間のハイブリダイゼーションの有無を検出する。ハイブリダイゼーションの有無は、例えば蛍光法を用いることにより行われ、プローブDNAにハイブリダイズした蛍光標識済ターゲットDNAのスポットからの蛍光を測定することにより検出することができる。

[0004] スポッティング型のDNAマイクロアレイは、プローブDNAを含む液滴を基板上に載せ、これを乾燥させることによって作製される(非特許文献1参照)。そのため、安価に作製できるという利点がある反面、基板上に固定されるDNAの均一さが保証されないという欠点がある。すなわち、DNA検出スポット部の寸法や形状がばらつくという欠点がある。

[0005] さらに、スポットティング型のDNAマイクロアレイの場合、DNA検出スポット部の周囲

に付着した固相化剤の存在により、ターゲットDNAが非特異的に基板上に吸着し、ノイズの上昇を引き起こし、S/N比を低下させるという問題もあった(非特許文献1参照)。

[0006] 蛍光測定時においては、蛍光部分を特定するグリッティングという操作が行われる。グリッティングは、アレイ上のスポットの縦横の数やスポット間隔、スポットの直径の大きさを入力し、スポットを円で囲む操作をいう(非特許文献1参照)。しかし、スポットのスタンプ形状および位置が安定していないと、蛍光解析時のグリッティング操作に非常に時間がかかる上、正確な解析が困難となる。

[0007] また、グリッティングは、スポットの位置がずれないとスポットを正確に囲むことができない。そのため、グリッティングを行うソフトウェアには、自動で位置を補正する機能が付いている。しかしながらすべての操作が自動になっているわけではなく、手動でスポットの開始点の設定を行ったり、目視によってすべてのスポットのグリッドを確認し補正する必要がある。この操作は非常に煩雑であり、DNAスポットの数が数千以上になると非常に時間がかかる作業となり、解析スピードを遅らせる要因となっている。

[0008] 一方、基板上に固定化されたプローブDNAと、試料であるターゲットDNAをハイブリダイゼーションさせるには、通常、十数時間を要する。さらにハイブリダイゼーションには多量の試料が必要とされる。そのため、ハイブリダイゼーション時間および多量の試料の調製に、莫大な時間と費用、労力が必要とされている。特に、低発現遺伝子の解析を行う場合、極めて多くの試料が必要となる。

非特許文献1:「必ずデータが出るDNAマイクロアレイ実践マニュアル 基本原理、チップ作成技術からバイオインフォマティクスまで」、第1版、羊土社、2002年12月1日、P. 19-21, 35, 106-108

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明の目的は、このような点を解決するものである。本発明は、平面電極に交流または直流の電圧を印加して電界を発生させることにより誘電泳動または電気泳動により生体高分子のハイブリダイゼーションを高速化すると共に、ハイブリダイズした生体高分子をレーザなどにより読み取り可能とした生体高分子のハイブリダイゼーション

ン用基板、生体高分子のハイブリダイゼーション装置、およびハイブリダイゼーション方法を提供する。

課題を解決するための手段

[0010] このような課題を達成するために、本発明は下記のものを提供する。

(1) 生体高分子検出用マイクロアレイ基板において、

この基板上に直流または交流の電源に接続される1対の2本の導電路が設置され、その導電路のパターンの一部において2本の導電路をその導電路間の電界分布が局所的に強くなる程度に近接して配置すると共に、その近接部の導電路上またはその近接部の近傍に生体高分子検出用のプローブ分子を固定化したことを特徴とする生体高分子のマイクロアレイ用基板。

[0011] (2) 生体高分子検出用マイクロアレイ基板において、

この基板上に直流または交流の電源に接続される1対の2本の導電路が設置され、その導電路のパターンの一部において2本の導電路をその導電路間の電界分布が局所的に強くなる程度に近接して配置すると共に、前記基板に対向して配置された対向基板における前記近接部の導電路またはその近接部の近傍に対向した位置に生体高分子検出用プローブ分子を固定化したことを特徴とする生体高分子のマイクロアレイ用基板。

[0012] このような構成によれば、導電路間に交流または直流電圧を印加して、近接配置された導電路間に局所的に強くなる分布の電界を発生させることにより、その導電路配置部に生体高分子を誘電泳動または電気泳動させて容易に濃縮させることができる。

[0013] (3) 導電路の近接部が、2箇所以上であることを特徴とする生体高分子のマイクロアレイ用基板。

(4) 前記基板が、ガラスまたはプラスチックまたはセラミックが用いられ、前記導電路をエッティングまたは印刷によりガラス基板上に形成したものである(1)または(2)に記載の生体高分子のマイクロアレイ用基板。

[0014] (5) 前記導電路が、前記プローブ分子を固定化した領域以外では溶液と絶縁されていることを特徴とする(1)～(4)のいずれか一つに記載の生体高分子のマイクロア

レイ用基板。

(6) 前記導電路とは別に、ハイブリダイゼーション後にハイブリダイゼーションの有無を検出するための電極を持つことを特徴とする(1)～(5)の何れか一つに記載の生体高分子のマイクロアレイ用基板。

[0015] (7) (1)～(6)のいずれか一つに記載の生体高分子マイクロアレイ用基板と、前記基板上に設置された2本の導電路に交流電圧または直流電圧を印加するための電源を有し、

この電源から電圧を前記導電路に印加して電界を発生させ、この電界に沿って前記基板上の溶液中に含まれる試料生体高分子ターゲットを誘電泳動または電気泳動させ得るように構成したことを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション装置。

[0016] このような構成によれば、電源より導電路間に交流または直流電圧を印加して、近接配置された導電路間に局所的に強くなる分布の電界を発生させることにより、その導電路配置部に生体高分子を誘電泳動または電気泳動させて濃縮させることができ、ハイブリダイゼーションの高速化を図り得るハイブリダイゼーション装置を容易に実現することができる。

[0017] (8) (7)に記載の装置であって、前記導電路が設置された基板面に対向して透明材料で形成されたカバー基板を設け、このカバー基板を通してハイブリダイズした蛍光標識付き生体高分子の蛍光を観測できるように構成したことを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション装置。

(9) (7)に記載の装置であって、前記導電路が透明材料で形成されたカバー基板上に形成され、このカバー基板の裏面からハイブリダイズした蛍光標識付き生体高分子の蛍光を観測できるように構成したことを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション装置。

[0018] (10) (7)～(9)の何れか一つに記載の生体高分子のハイブリダイゼーションを行う方法であって、

前記導電路間に前記電源から出力された交流電圧または直流電圧を印加して電界を発生させ、溶液中に自然拡散している試料生体高分子ターゲットを誘電泳動ま

たは電気泳動により導電路近傍に濃縮させてハイブリダイゼーションを行うようによることを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション方法。

この方法によれば、ハイブリダイゼーションを容易に高速化できる。

[0019] (11)前記試料生体高分子ターゲットが、ハイブリダイゼーション後に蛍光信号または電流値により検出することを特徴とする(10)に記載の生体高分子のハイブリダイゼーション方法。

発明の効果

[0020] 以上説明したように、本発明によれば次のような効果がある。

(1)基板上に設けた互いに近接した2極の導電路(以下この導電路部分を平面電極と称する)間に、交流または直流電圧を印加して平面電極近傍に電界を発生させ、これにより、平面電極近傍に生体高分子を濃縮することのできる生体高分子のマイクロアレイ用基板、およびこのマイクロアレイ基板を用いたハイブリダイゼーション装置、ならびにハイブリダイゼーションを高速化する方法を、それぞれ容易に実現することができる。

[0021] (2)また、このようなハイブリダイゼーション装置では、平面電極面を設けた基板面に対向して配置されるカバー基板が透明な材料で形成されており、カバー基板を通して、ハイブリダイズした蛍光標識付き生体高分子の蛍光を従来のレーザ等による読み取り装置で容易に読み取ることができ、従来の読み取り装置がそのまま利用できるという利点がある。

[0022] (3)本発明の基板は従来の基板に平面電極を取り付けるだけであり、製造コストの低い生体高分子マイクロアレイ(DNAチップなど)を容易に作製できる。

[0023] (4)この平面電極のパターンは、金属で、反射率が高いため、反射像を測定することにより容易にグリッディングが可能となる。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]本発明に係る生体高分子ハイブリダイゼーション装置の一部を示す実施例構成図である。

[図2]平面電極の形状を示す図である。

[図3]生体高分子のスポット例を示す図である。

[図4]生体高分子の他のスポット例を示す図である。

[図5]平面電極とプローブDNAの他の設置例を示す図である。

[図6]平面電極とプローブDNAの更に他の設置例を示す図である。

[図7]平面電極とプローブDNAの更に他の設置例を示す図である。

[図8]平面電極とプローブDNAの更に他の設置例を示す図である。

符号の説明

[0025] 1 生体高分子のハイブリダイゼーション装置

2 基板

3, 3₁, 3₂, 3₃ 平面電極

4, 4₁, 4₂, 4₃ 平面電極

3a, 4a リード線

5 カバー基板

6 プローブDNA

6₁, 6₂, 6₃, 6₄ 生体高分子のスポット

7 試料ターゲットDNA

8 溶液

10 電源

20 読取装置の対物レンズ

発明を実施するための最良の形態

[0026] 以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。

図1は本発明に係る生体高分子ハイブリダイゼーション装置の一部を示す実施例構成図であり、ハイブリダイズした生体高分子の蛍光標識を読取るための読取装置に設けられた対物レンズも併せて示してある。

なお、実施例では、生体高分子としてDNAを例にとって説明する。

[0027] 図1において、1は生体高分子ハイブリダイゼーション装置、20は読取装置の対物レンズである。生体高分子ハイブリダイゼーション装置1は、基板2と、基板2上面に取付けられた導電部の特に近接配置された2極の導電部である平面電極3, 4と、透明な材料で形成されたカバー基板5と、平面電極3, 4の間に電界を印加するた

めの電源10を備える。

[0028] 平面電極3, 4の上面にはプローブDNA6が固定化され、基板2とカバー基板5に挟まれた空間には試料ターゲットDNA7を含む溶液8が満たされる。なお、基板2とカバー基板5とは側壁(図示せず)に囲まれて密閉状の容器に形成され、溶液8が流出しない構造となっている。また、図では1つのサイトに係る平面電極3, 4とプローブDNA6を示してあるが、1つのDNAチップやDNAマイクロアレイにはこのような平面電極が複数サイト分所定の間隔で配置されている。

[0029] 平面電極3, 4は、基板2上でその2極が互いに接触しないように近接した位置に配置されており、その形状は例えば図2の(a)～(c)に示すようなものが使用可能である。

図2の(a)は、円形状の電極とそれを取り巻く円環状の電極からなる平面電極であり、その円形状の電極3₁と円環状の電極4₁はそれぞれリード線3a, 4aを介して電源10に接続される。また、図2の(b)は互いに入れ子状に配置された櫛の歯状の平面電極であり、各電極3₂, 4₂はそれぞれリード線3a, 4aを介して電源10に接続される。また、図2の(c)は互いに渦巻き状に形成された電極であり、各電極3₃, 4₃はそれぞれリード線3a, 4aを介して電源10に接続される。

[0030] このような形の平面電極は、基板2表面に取付けられるが、例えば次のようにして作製することもできる。基板2として表面研磨したスライドガラスを用いる。そのガラス表面に真空蒸着により金を蒸着する。その上にレジストを塗布してベーキングした後、紫外線露光装置により、フォトマスクを通して上記スライドガラスに紫外光を照射する。照射後、現像を行い、図2に示すような電極形状のレジストパターンを金表面上に形成する。

[0031] レジストパターン以外の表面の金は金エッチャントによりエッチングする。このようにして、フォトマスク通りの電極形状の金パターンを有するガラス基板を作製することができる。なお、リード線もパターン化して同様に作製できる。

[0032] このような構成における動作を次に説明する。予めプローブDNA6を電極面上にスタンプし固定化しておく。例えば、図2(a)では、電極3₁の円形部分にプローブDNAをスポットし、この円形電極上に固定化しておく。基板2とカバー基板5に挟まれた空

間に蛍光標識した試料ターゲットDNA7を含む溶液8を満たした後、電源10より平面電極3₁, 4₁の間に交流電圧を印加する。これにより電極3₁, 4₁間の電界密度が高まり、溶液8中に自然拡散している負電荷を有する試料ターゲットDNA7は誘電泳動によって電極部3₁, 4₁近傍に引き寄せられ濃縮する。

[0033] これにより、電極部に固定化されたプローブDNA6と、試料ターゲットDNA7とのハイブリダイズを促進させることができる。このような交流電圧による促進効果については、例えば、第26回日本分子生物学会年会

神戸国際展示場において平成15年12月10日-13日に発表された「次世代DNAマイクロアレイシステムの開発—MESA型アレイにおけるハイブリッド形成の増進効果—」(発表者:葛西耕平、畠山哲、島村貴之、近藤恭光、田代朋子、田代英夫)より明らかである。

[0034] ハイブリダイゼーション後、ハイブリダイズしない試料ターゲットDNAは溶液8と共に洗い流し、プローブDNAとハイブリダイズした試料ターゲットDNA7に、透明窓のカバー基板5を通して読取装置側から励起光(例えばレーザ光)を照射する。蛍光標識から発光した蛍光はカバー基板5を通して対物レンズ20に入り、読取装置で読取られる。このようにしてプローブDNAにハイブリダイズした試料ターゲットDNA7を計測することができる。

なお、蛍光標識DNAの読取には、スキャン型の共焦点顕微鏡、スキャンレス型のマルチビーム式の読取装置などを用いることができる。

[0035] なお、電極3, 4に印加する電圧は、交流でも直流でもよい。上記実施例のように交流電圧を印加する場合は、低周波数では試料ターゲットDNA7を含む溶液が電気分解により気泡等が発生しやすいため高周波の交流を用いるのが好ましい。

[0036] 一方、直流電圧を印加する場合は、高電圧をかけると、試料ターゲットDNA7を含む溶液が高電圧により電気分解し、気泡等が発生しやすい懸念があるため、低電圧を使用するのが好ましい。負に帯電している試料ターゲットDNA7は正極側の電極の方に集まってくる。

なお、電源10は、印加する電圧が交流か直流かに応じて、交流電源または直流電源を用いる。あるいは、設定により交流電圧または直流電圧のいずれかを選択的に

出力できる電源を用いてもよい。

[0037] なお、本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。

例えば、図2にある近接電極部は基板上に複数アレイ状に設置することができる。これによって多数のDNAの解析を同時に行うことができる。

[0038] また、図3に示すように、1つの近接電極部に複数種類の生体高分子のスポットをそれぞれ分離してスポットしてもよい。

また、図4に示すように、プローブDNA₅, 6₆, 6₇, … 6_n は平面電極上ではなく、平面電極の近傍にスポットしてもよい。この場合でも、電極の近傍にはターゲットDNA7が高濃度で存在しているためハイブリダイゼーションは加速される。

[0039] また、図5に示すように、蛍光を読取るための透明なカバー基板5側に平面電極3, 4とプローブDNA6を設置してもよい。この場合、プローブDNA6は透明な平面電極に固定化される。

また、図6に示すように、平面電極の近傍にプローブDNA6を設置してもよい。この場合は、平面電極は透明でなくてもよい。

[0040] また、図7あるいは図8に示すような配置としてもよい。いずれの図においても、基板2としては、平板上に、上面が平坦な円柱状または四角柱状の凸型突起部2aを持つ構造の基板2を用いる。そして、平面電極とプローブDNAを対向する面に配置する。すなわち、図7では、凸型突起部2aの上面に平面電極3, 4が取付けられ、プローブDNA6が透明なカバー基板5の下面に固定化されている。図8では、平面電極3, 4が透明なカバー基板5の下面に取付けられ、プローブDNA6が凸型突起部2aの上面に取付けられている。

[0041] この場合のギャップa、すなわち、図7におけるカバー基板5と平面電極3, 4の間のギャップaと、図8における平面電極3, 4と凸型突起部2aの上面との間のギャップaは狭い方が望ましい。

[0042] また、近接部以外の導線からも電気分解が生じる可能性があるが、これに対しては、生体高分子を固定化した領域以外(固定部位以外)を非導電性の膜で覆うなどの構造により溶液と絶縁すればよい。

[0043] また、検出は、予め蛍光標識したターゲットDNAなどを使用する以外に、ハイブリダイゼーション後にインターラーカレータ型の試薬を二本鎖の間に挿入し、蛍光信号や電流値で検出する方法でもよい。また、蛍光ではなく、吸収やりん光でもよい。

また、電流検出の場合、ハイブリダイゼーション用の導電路とは別に、検出用の専用電極と検出回路を別途設置してもよい。

産業上の利用可能性

[0044] 本発明によれば、通常の遺伝子発現解析においては極めて高速にハイブリダイゼーションを行わせることが可能であり、低発現遺伝子の解析を行う場合にあっては、従来必要とされたほどの多量の試料を調製せずとも、高速にハイブリダイゼーションを行わせることが可能になる。

請求の範囲

[1] 生体高分子検出用マイクロアレイ基板において、
この基板上に直流または交流の電源に接続される1対の2本の導電路が設置され、
その導電路のパターンの一部において2本の導電路をその導電路間の電界分布が
局所的に強くなる程度に近接して配置すると共に、その近接部の導電路上またはそ
の近接部の近傍に生体高分子検出用のプローブ分子を固定化したことを特徴とする
生体高分子のマイクロアレイ用基板。

[2] 生体高分子検出用マイクロアレイ基板において、
この基板上に直流または交流の電源に接続される1対の2本の導電路が設置され、
その導電路のパターンの一部において2本の導電路をその導電路間の電界分布が
局所的に強くなる程度に近接して配置すると共に、前記基板に対向して配置された
対向基板における前記近接部の導電路またはその近接部の近傍に対向した位置に
生体高分子検出用プローブ分子を固定化したことを特徴とする生体高分子のマイク
ロアレイ用基板。

[3] 前記近接部は2箇所以上であることを特徴とする請求項1または2に記載の生体高
分子のマイクロアレイ用基板。

[4] 前記基板はガラスまたはプラスチックまたはセラミックであり、前記2本の導電路をエ
ッチングまたは印刷により基板上に形成したことを特徴とする請求項1ないし3のいづ
れかに記載の生体高分子のマイクロアレイ用基板。

[5] 前記導電路は、前記プローブ分子を固定化した領域以外では溶液と絶縁されてい
ることを特徴とする請求項1ないし4のいづれかに記載の生体高分子のマイクロアレイ
用基板。

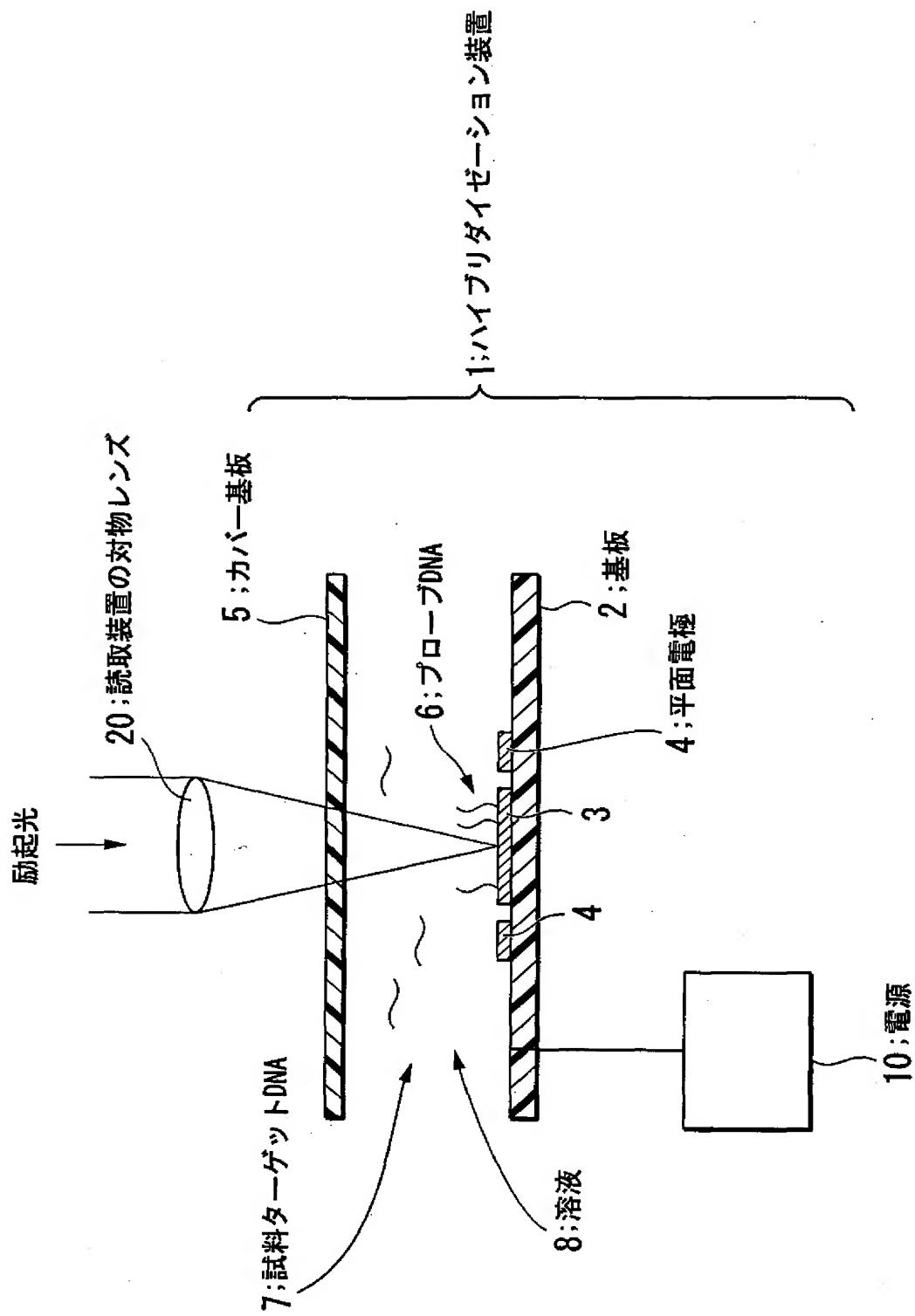
[6] 前記導電路とは別に、ハイブリダイゼーション後にハイブリダイゼーションの有無を
検出するための電極を持つことを特徴とする請求項1ないし5のいづれかに記載の生
体高分子のマイクロアレイ用基板。

[7] 請求項1ないし6のいづれかに記載の生体高分子マイクロアレイ用基板と、
前記基板上に設置された2本の導電路に交流電圧または直流電圧を印加するた
めの電源を有し、

この電源から電圧を前記導電路に印加して電界を発生させ、この電界に沿って前記基板上の溶液中に含まれる試料生体高分子ターゲットを誘電泳動または電気泳動させ得るように構成したことを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション装置。

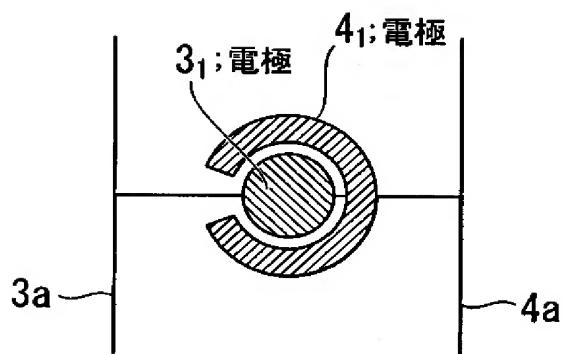
- [8] 請求項7に記載の装置であって、
前記導電路が設置された基板面に対向して透明材料で形成されたカバー基板を設け、このカバー基板を通してハイブリダイズした蛍光標識付き生体高分子の蛍光を観測できるように構成したことを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション装置。
- [9] 請求項7に記載の装置であって、
前記導電路は透明材料で形成されたカバー基板上に形成され、このカバー基板の裏面からハイブリダイズした蛍光標識付き生体高分子の蛍光を観測できるように構成したことを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション装置。
- [10] 請求項7ないし9のいずれかに記載の装置を用いて生体高分子のハイブリダイゼーションを行う方法であって、
前記導電路間に前記電源から出力された交流電圧または直流電圧を印加して電界を発生させ、溶液中に自然拡散している試料生体高分子ターゲットを誘電泳動または電気泳動により導電路近傍に濃縮させてハイブリダイゼーションを行うようにすることを特徴とする生体高分子のハイブリダイゼーション方法。
- [11] 前記試料生体高分子ターゲットは、ハイブリダイゼーション後に蛍光信号または電流値により検出することを特徴とする請求項10に記載の生体高分子のハイブリダイゼーション方法。

[図1]

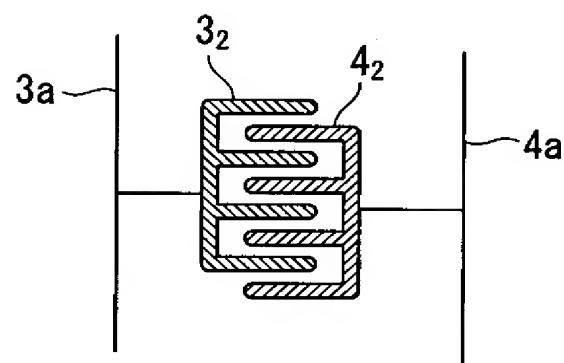


[図2]

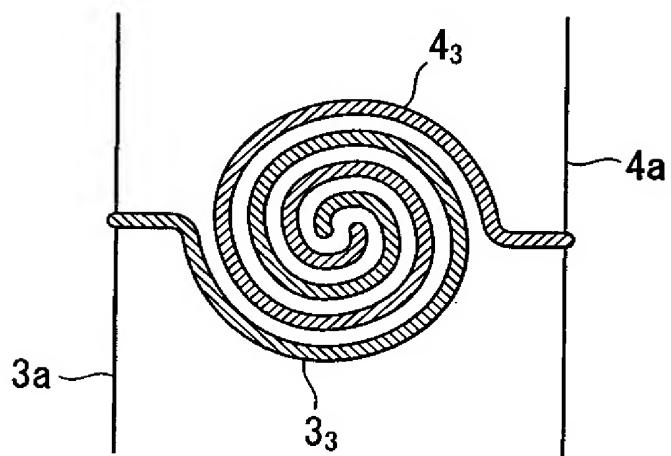
(a)



(b)

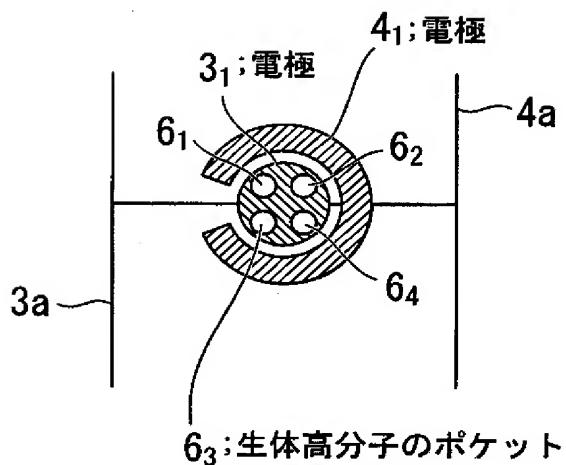


(c)

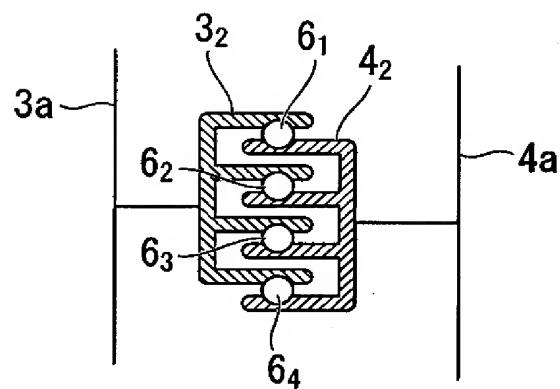


[図3]

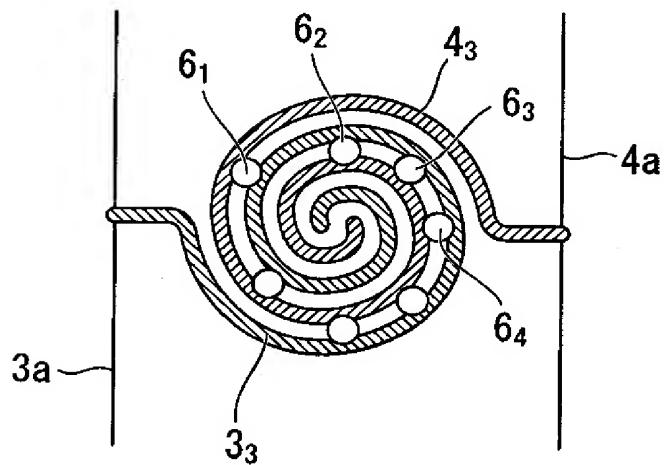
(a)



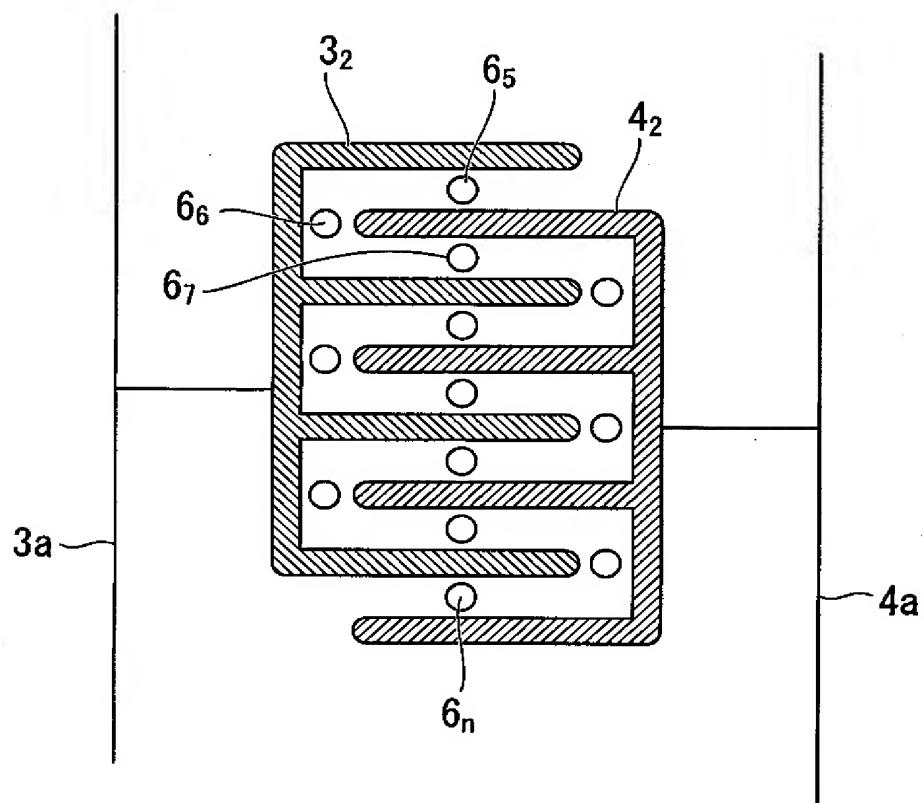
(b)



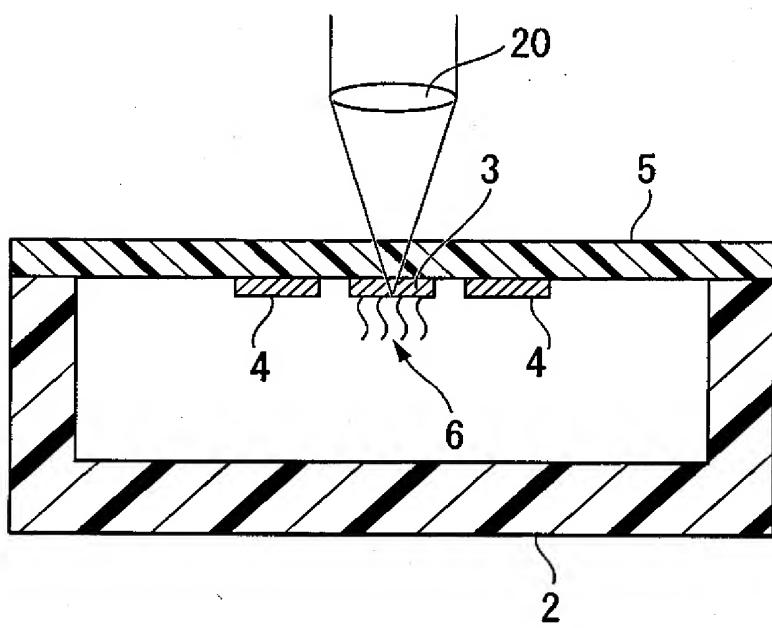
(c)



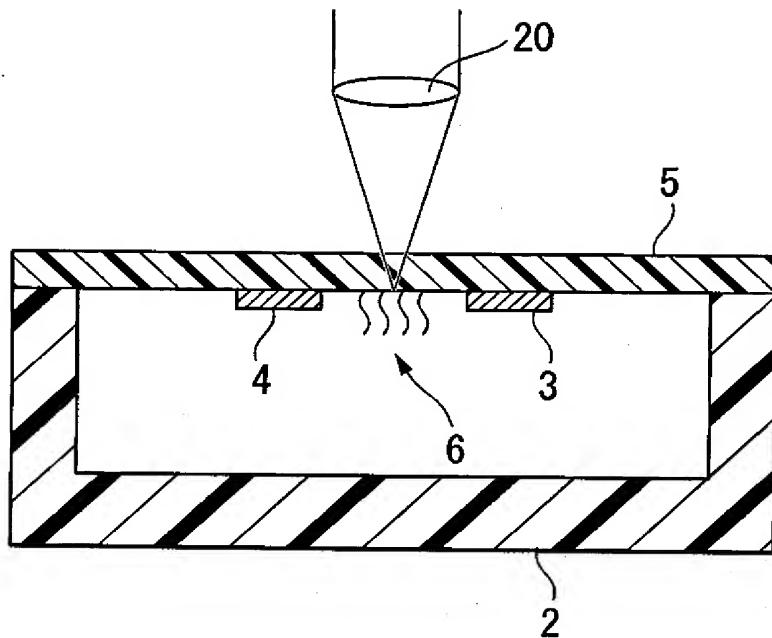
[図4]



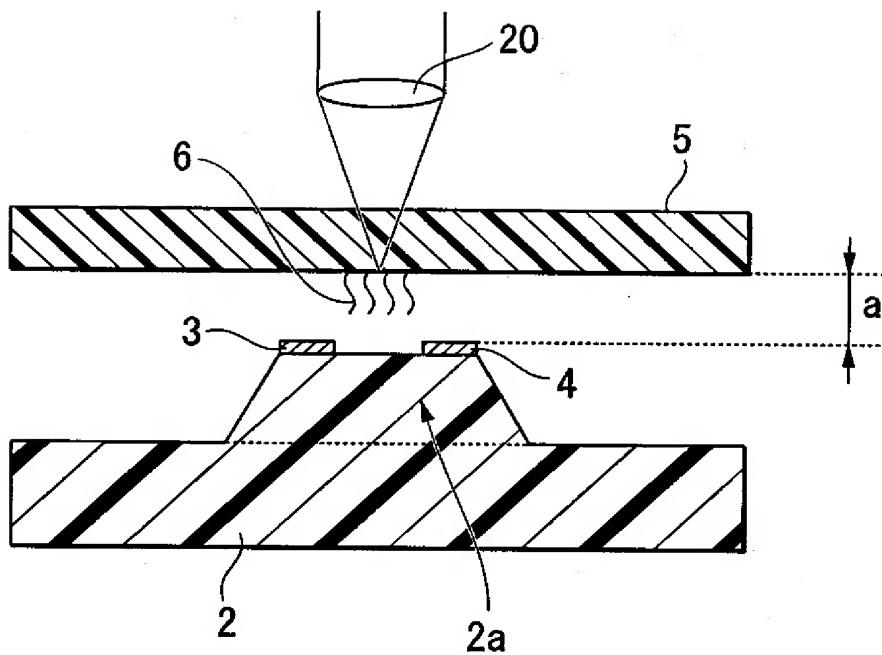
[図5]



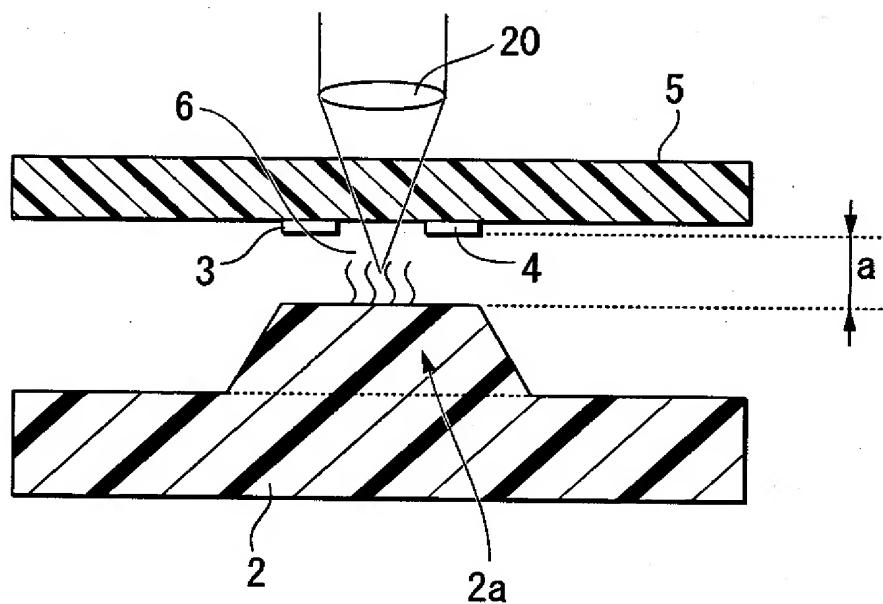
[図6]



[図7]



[図8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002440

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ G01N37/00, G01N33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ G01N37/00, G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | | | |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho | 1922-1996 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2005 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2005 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2005 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | JP 2004-020386 A (Toray Industries, Inc.), 22 January, 2004 (22.01.04), Claims; Par. Nos. [0027], [0052], [0054]; examples; Figs. 1 to 4 (Family: none) | 1-11 |
| X | JP 2004-045376 A (Sony Corp.), 12 February, 2004 (12.02.04), & EP 1507146 A & WO 03/098216 A | 1-11 |
| P, X | JP 2005-024532 A (RIKEN, Japan), 27 January, 2005 (27.01.05), & WO 2004/111644 A | 1-11 |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

| | |
|--|--|
| * Special categories of cited documents: | |
| "A" | document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance |
| "E" | earlier application or patent but published on or after the international filing date |
| "L" | document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) |
| "O" | document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means |
| "P" | document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed |
| "T" | later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "X" | document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "Y" | document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "&" | document member of the same patent family |

| | |
|--|---|
| Date of the actual completion of the international search 10 March, 2005 (10.03.05) | Date of mailing of the international search report 29 March, 2005 (29.03.05) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1⁷ G01N37/00, G01N33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1⁷ G01N37/00, G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2005年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2005年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2005年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| X | JP 2004-020386 A(東レ株式会社) 2004.01.22 特許請求の範囲、【0027】、【0052】、【0054】、 実施例、図1-4等参照 (ファミリーなし) | 1-11 |
| X | JP 2004-045376 A(ソニー株式会社) 2004.02.12 & EP 1507146 A & WO 03098216 A | 1-11 |
| PX | JP 2005-024532 A(独立行政法人理化学研究所) 2005.01.27 & WO 2004/111644 A | 1-11 |

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10.03.2005

国際調査報告の発送日

29.3.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

加々美 一恵

2 J 9408

電話番号 03-3581-1101 内線 3251